

BÉRCZI BÁLINT¹
 GERENCSÉR GELLÉRT¹
 FARKAS NELLI²
 HEGYI PÉTER^{3,4,5}
 VERES GÁBOR⁶
 BAJOR JUDIT⁷
 CZOPF LÁSZLÓ⁸
 HUSSAIN ALIZADEH⁹
 RAKONCZAY ZOLTÁN¹⁰
 VIGH ÉVA¹¹
 ERŐSS BÁLINT⁴
 SZEMES KATA⁷
 GYÖNGYI ZOLTÁN¹

Összefüggés az AIRE gén polimorfizmusai és a reumatoid arthritis között: szisztematikus irodalmi áttekintés és eset-kontroll vizsgálatok meta-analízise

Association between AIRE gene polymorphism and rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis of case-control studies

¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Népegészségtani Intézet - 7624 Pécs, Szigeti út 12.
 Tel.: (72) 536 394 – Fax: (72) 536 395 – E-mail: berczi.balint84@gmail.com

² Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet

³ Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Translational Gastroenterology Research Group

⁴ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet

⁵ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, I.sz. Belgyógyászati Klinika, Transzlációs Medicina Tanszék

⁶ Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika

⁷ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, I.sz. Belgyógyászati Klinika, Gasztroenterológiai Tanszék

⁸ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, I.sz. Belgyógyászati Klinika, Kardiológiai és Angiológiai Tanszék

⁹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, I.sz. Belgyógyászati Klinika, Hematológiai Tanszék

¹⁰ Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kórélettani Intézet

¹¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Radiológiai Klinika

Összefoglalás: Az autoimmun regulator (AIRE) egy transzkripció faktor, mely a csecsemőmirigyben kulcsfontosságú szerepet tölt be a naív T-sejtek érésében, negatív szelekciójában. Kísérletes vizsgálatok szerint, a kódoló génszakasz egy nukleotidban megmutatkozó allélpolimorfizmusai növelhetik az autoimmun betegségek kockázatát, melyek közül eddig a reumatoid arthritisszel mutattak szignifikáns összefüggést az ezt célzó epidemiológiai megfigyelések. Meta-analízisünk során rs2075876 (7145 eset, 8579 kontroll) és rs760426 (6696 eset, 8164 kontroll) allélpolimorfizmusokat vizsgáltuk melynek eredményeként azt találtuk, hogy az összes genetikai modellben az rs2075876 és rs760426 előfordulása szignifikáns összefüggésben van a reumatoid arthritisszel. Ezek az eredmények legfőképp ázsiai populációkra érvényesek.

Kulcsszavak: reumatoid arthritis, AIRE, SNP, negatív szelekció, meta-analízis

Summary: Autoimmune regulator (AIRE) is a transcription factor in the thymus where it has a pivotal role in the negative selection of naive T-cells. Experimental studies have shown that single nucleotide polymorphism may elevate the risk of autoimmune diseases, out of which only rheumatoid arthritis was observed by epidemiological studies. Our meta-analysis sought to analyse rs2075876 (7145 cases, 8579 controls) and rs760426 (6696 cases, 8164 controls) allelic polymorphisms where significant association was found with rheumatoid arthritis in each genetic model. These findings are primarily based on data from Asian populations.

Keywords: rheumatoid arthritis, AIRE, SNP, negative selection, meta-analysis

BEVEZETÉS

A reumatoid arthritis (RA) egy krónikus, szinoviális gyulladással járó autoimmun betegség, melynek során

a következményes extraarticularis tünetekkel járó szimmetrikus polyarticularis arthritis funkcióvesztéssel jár. Fejlett országokban a betegség prevalenciája felnőtt populációban 0,5–1%, éves incidenciája 5–50/100 000 [1].

Annak ellenére, hogy a RA etiológiája még nem teljesen tisztázott, számos közlemény egyetért abban, hogy a folyamatot az adaptív immunrendszerből kijutó autoimmun T-sejtek indítják el [2–5]. A betegséggel szembeni érzékenységet számos környezeti és genetikai tényező határozza meg. A legutóbbi etnikumok közötti genomszintű asszociációs vizsgálat (genom-wide association studies, GWAS) 29980 RA eset és 73578 kontroll bevonásával meghatározta a RA kialakulásában résztvevő összes olyan jelenleg detektálható gént, melyeknek egy pontos nukleotid polimorfizmusai (SNP, single nucleotide polymorphism) hozzájárulhatnak a betegség etiológiájához. A gének közül egynek döntő szerepe van az autoimmunitás kontrollálásában, ez az autoimmun regulator (AIRE) transzkripció faktor kódoló szekvencia. A gén a 21-es kromoszóma hosszú karján, 21q22.3 sávnál helyezkedik el, ~12,5 kilobázis hosszú és 14 exoniális szekvenciával egy 545 aminosavból álló, 58 kDa nagyságú fehérjét kódol [7–9]. Az AIRE fehérje egy transzkripció faktor, mely az éretlen T-sejtek (thymociták) negatív szelekcióját irányítja. Ennek kulcsfolyamata a csecsemőmirigy medullaris sejtjeiben (medullar thymoeptithelial cell, mTEC) végbe menő promiszkuus génextpresszió (pGE), melynek során DNS-kötő fehérjékkel együttműködve olyan perifériás szöveti antigének (peripheral tissue antigen, PTA) termelődését engedi meg, melyek leképezik a test teljes szöveti fehérjeállományát. Ezt követően a PTA-k kikerülnek a velősejtek felületi fő hisztokompatibilitási komplex (major histocompatibility complex, MHC) receptoraira, mely által a folyamat egyfajta tükröt tart az érésben lévő thymocitáknak. Amennyiben az éretlen T-sejt receptorával felismeri a velősejtek felületére kihelyezett test-antigéneket, autoimmun természetűe bebizonyosodik és apoptózissal klonálisan törlődik. Az AIRE fehérjét kódoló DNS-szekvenciában előforduló funkcióvesztő mutáció következménye a szelekció elmaradása és a perifériára kijutó érett, viszont autoreaktív T-sejtek egy viszonylag ritka autoimmun betegséget, az I-es típusú autoimmun poliendokrin szindrómát (APECED, APS-1) okozzák [10–12]. Számos közlemény egybehangzóan állítja, hogy a kódoló génszakasz egy nukleotidban megmutatkozó allélpolimorfizmusai (SNP, single nucleotide polymorphism) befolyásolhatják az AIRE transzkripcióját, következésképp a fehérje funkcióját, amely így emelheti az egyes betegségek iránti fogékonyságot [7]. A legutóbbi kísérletes in vivo vizsgálat során két egymástól jól elkülönülő SNP, AIRE-230Y és AIRE-655G került azonosítás-

ra, melyek közül az AIRE-230T haplotípus módosította az AIRE gén expresszióját, amely a megváltozott negatív szelekción keresztül emelte az autoimmunitás kockázatát [13]. Az AIRE fehérjét kódoló DNS-szekvenciában előforduló SNP-k felé egyre nagyobb figyelem irányul, habár egyelőre kevés epidemiológiai megfigyelés igazolt összefüggést a génpolimorfizmus és a betegség iránti fogékonyság között. Jelenleg vitatott [7, 14], alopecia areata [7, 15], melanoma [7, 16], szisztémás sclerosis [7, 17] és rheumatoid arthritis (RA) [7, 18–23] esetében mutattak a vizsgálatok pozitív összefüggést egyes allélpolimorfizmusokkal. Az utóbbi betegségek közül egyedül a rheumatoid arthritist vizsgálta több epidemiológiai megfigyelés, így számunkra optimálisnak bizonyult pozitív vagy negatív összefüggések további elemzésére. Közleményünk olyan eset-kontroll vizsgálatok szakirodalmi áttekintése és összefoglaló meta-analízise, mely eddig egy még nem publikált összefüggést igazol rs2075876, rs760426 SNP jelenléte és RA között.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Keresési stratégia

A szisztematikus irodalmi áttekintés során a PubMed, Embase, Cochrane Library, és a Web of Science adatbázisokat használtuk a Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) útmutatásainak megfelelően [24]. A keresést 2017. május 16-án fejeztük be. Kulcsszavas keresést (“autoimmune regulator”; “AIRE”; “polymorphism”; “rheumatoid arthritis”) két egymástól független kutató végezte. A beválasztott közlemények 2011. április és 2016. június között jelentek meg.

Beválasztási és kizárási kritériumok

Azt a közleményt válogattuk be (1) mely összefüggést talált az AIRE gént kódoló DNS-szekvenciában található SNP-k vagy azok haplotípusai és a RA fogékonysága között, (2) eset-kontroll alapú vizsgálat volt, (3) ahol az összes beteg megfelelt az American College of Rheumatology diagnosztikus és besorolási kritériumainak, (4) és ahol rendelkezésre álltak az egyes résztvevők genotípusaira vonatkozó esélyhányadosok (odds ratio, OR), 95%-os konfidencia intervallumok (95% CI) és a p-értékek adatai. A talált publikációt kizártuk, ha

(1) az duplikátum volt, valamint (2) a közleményben vizsgált polimorfizmus legalább 4 további publikációban nem volt megtalálható. Emellett a szakirodalmi áttekintéseket is kizártuk. A beválasztási és kizárási kritériumok alapján történő keresést két kutató, egymástól függetlenül végezte.

Statisztikai analízis

Hardy-Weinberg eloszlást (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) khi-négyzet próba alapján számoltunk minden egyes kontroll csoporthoz. Annak érdekében, hogy az rs2075876, rs760426 polimorfizmusok és RA közti összefüggés erősségét meghatározzuk, súlyozott esélyhányadost (pooled OR) és 95%-os konfidencia intervallumot számoltunk. A közleményekben szereplő, különböző etnikumok miatt DerSimonian és Laird random effekt modelljét használtuk [25]. Heterogenitás vizsgálatára két módszert alkalmaztunk. Elsőként, a Cochran-féle Q-tesztet, ahol szignifikáns heterogenitásnak az számított, ha a Q értéke meghaladta a khi-négyzet próba k-1 szabadsági fokú felső kritikus értékét. Ebben az esetben szignifikánsnak tekintettük a tesztet, ha p értéke kisebb volt, mint 0,1. Másodikként, az inkonzisztencia (I^2) vizsgálatot alkalmaztunk, ahol a kapott I^2 érték a vizsgálatok közötti variabilitás százalékos aránya a teljes variabilitáshoz képest. 25, 50 és 75%-os I^2 értékek a Cochran-féle kézikönyv alapján megfelelnek az alacsony, mérsékelt és magas heterogenitásnak [26]. Annak vizsgálatára, hogy az egyes tanulmányok eredményei hogyan befolyásolják az összesített súlyozott esélyhányadost és annak 95%-os megbízhatósági tartományát, szenzitivitás-analízist végeztünk. Publikációs torzítást (publication bias) a funnel plot szemrevételezésével vizsgáltunk. A funnel plotban a standard hiba az esélyhányados logaritmusának függvényében került ábrázolásra. A meta-analízis számításait a Comprehensive Meta-Analysis Version 3 (Biostat, Inc., Englewood, NJ, USA) szoftvercsomaggal végeztük.

Trial sequential analízis (TSA)

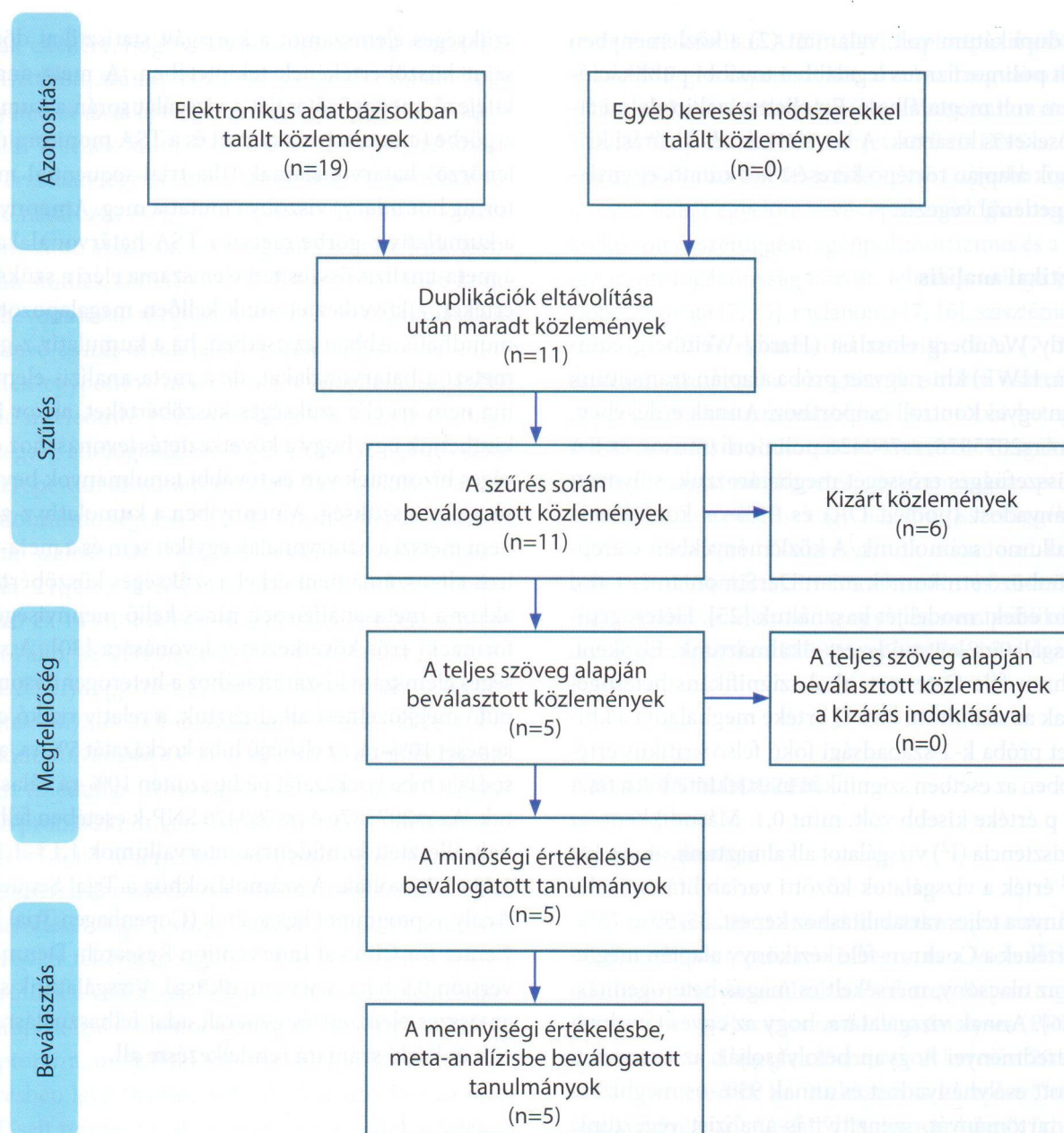
A meta-analízisek eredménye torzulhat az ún. elsőfajú hibák által, melynek során, ha nem-megfelelő mennyiségű adat kerül elemzésre, magasabb a random hiba előfordulásának a kockázata. Annak érdekében, hogy ezt elkerüljük és növeljük a levont következtetés erősségét, trial sequential analízist (TSA) végeztünk [27-29]. TSA egy olyan becslés, mely meghatározza

szükséges elemszámot a korrigált statisztikai döntési szint küszöbértékének tekintetében. A meta-analízis kifejező, meggyőző erejét a vizsgálat során a kumulált z-görbe (cumulative z-curve) és a TSA monitoráló (ellenőrző) határvonalainak (the trial sequential monitoring boundary) viszonya mutatja meg. Amennyiben a kumulatív z-görbe metszi a TSA-határvonalakat, és a meta-analízis összesített elemszáma eléri a szükséges értéket, a következtetésünk kellően megalapozottnak mondható. Abban az esetben, ha a kumulatív z-görbe metszi a határvonalakat, de a meta-analízis elemszáma nem éri el a szükséges küszöbértéket, akkor is tekinthetjük úgy, hogy a következtetés levonásához elégséges bizonyíték van és további tanulmányok bevonására nincs szükség. Amennyiben a kumulatív z-görbe nem metszi a határvonalak egyikét sem és a meta-analízis elemszáma nem éri el a szükséges küszöbértéket, akkor a meta-analízisben nincs kellő mennyiségű információ erős következtetés levonására [30]. A szükséges elemszám kiszámításához a heterogenitáson alapuló megközelítést alkalmaztuk, a relatív rizikó csökkenését 10%-ra, az elsőfajú hiba kockázatát 5%-ra, a másodfajú hiba kockázatát pedig szintén 10%-ra választottuk. Az rs2075876 és rs760426 SNP-k esetében felhasznált, illesztett konfidencia intervallumok 1,13–1,31 és 1,11–1,26 voltak. A számolásokhoz a Trial Sequential Analysis programot használtuk (Copenhagen Trial Unit, Center for Clinical Intervention Research, Denmark, version 0.9 beta, www.ctu.dk/tsa). Vizsgálatunk során az összes elemzett és generált adat felhasználásra került és bárki számára rendelkezésre áll.

EREDMÉNYEK

Beválasztott közlemények jellemzői

Publikációk részletes keresése során a PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) irányelveket követtük, melynek során az Embase, PubMed, Cochrane Library, és a Web of Science adatbázisokban 19 releváns közleményt azonosítottunk. A duplikátumok eltávolítását követően, a fennmaradó 11 esetben megvizsgáltuk, vajon a kritériumok alapján meta-analízisre beválogathatóak-e, melynek eredményeképp öt publikáció bizonyult megfelelőnek. A PRISMA irányelvek szerinti keresést az 1. ábra mutatja. A beválasztott eset-kontroll analízisek ázsiai és kaukázusi populációkat vizsgáltak. A RA diagnó-



1. ábra

A meta-analízisbe beválogatott és a kizárt közlemények PRISMA irányelvek szerinti folyamatábrája

zisa és besorolása minden betegnél az American College of Rheumatology 1987-es kritériumai alapján történt [31]. A RA betegek átlagéletkora $54,1 \pm 2,4$ év, ebből a női esetek aránya 73,34% volt. A genotipizálás microarray, SNaPshot és Taqman SNP-próbákkal történt. Az öt beválogatott eset-kontroll analízis vizsgálata során 11 SNP-t azonosítottunk az AIRE transzkripció faktor kódoló génszakaszon „rs” számuk alapján (refSNP cluster ID numbers) (rs2075876, rs760426, rs1800250, rs2776377, rs878081, rs1055311, rs933150,

rs1003854, rs2256817, rs374696, rs1078480), melyek közül az rs2075876 és rs760426 polimorfizmust vizsgálta négynél több eset-kontroll analízis, így elvégeztük az rs2075876 (7145 eset, 8579 kontroll) valamint az rs760426 (6696 eset, 8164 kontroll) SNP meta-analízisét. A kontrollcsoportok genotípus- frekvencia értékei Hardy-Weinberg egyensúlyban (HWE) voltak. A beválogatott vizsgálatok jellemzőit az I. táblázat tartalmazza.

	Publikálás éve	Ország	Etnicitás	Diagnosztikus kritérium	Genotipizálás	Átlagéletkor		Nők %		Kontroll forrása
						eset	kontroll	eset	kontroll	
SNP rs2075876 (G>A)	Terao C	Japán	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	microarray	63,0±12,5	52,0±15,8	82,1	60,6	K
					microarray	60,8±11,5	38,1±11,9	84,1	39,6	K
					microarray	61,4±11,5	52,5±15,2	81,4	44,4	K
	García-Lozano JR	Spanyolország	kaukázusi	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	Taqman SNP genotyping assay	49,23 ± 14,8	NA	74,3	NA	K
	Shao S	Kína	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	SNaPshot assay	48,69±14,18	47,02±16,34	80,6	37,0	K
	Feng ZJ	Kína (Han)	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	Taqman SNP genotyping assay	54,1 ± 11,2	52,4 ± 11,8	53,5	58,5	K
	Li X	Kína (Shaanxi)	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	SNaPshot Assay	43,5 ± 19,2	44,3 ± 17,8	64,3	59,7	K
	Terao C	Japán	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	microarray	63,0±12,5	52,0±15,8	82,1	60,6	K
					microarray	60,8±11,5	38,1±11,9	84,1	39,6	K
					microarray	61,4±11,5	52,5±15,2	81,4	44,4	K
SNP rs760426 (A>G)	Shao S	Kína	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	SNaPshot assay	48,69±14,18	47,02±16,34	80,6	37,0	K
	Feng ZJ	Kína (Han)	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	Taqman SNP genotyping assay	54,1 ± 11,2	52,4 ± 11,8	53,5	58,5	K
	Li X	Kína (Shaanxi)	ázsiai	Revised criteria (1987) of the American College of Rheumatology for RA	SNaPshot Assay	43,5 ± 19,2	44,3 ± 17,8	64,3	59,7	K

I. táblázat

rs2075876 (G>A) és rs760426 (A>G) SNP meta-analíziséhez beválasztott vizsgálatok jellemzői
(SNP = single nucleotide polymorphism; NA = nincs adat; K = kórház)

II. táblázat
rs2075876 (G>A) és rs760426 (A>G) SNP vizsgálata során, az egyes genetikai
modellekhez számolt OR, 95%CI és p-érték
 (NA = nincs adat; OR = odds ratio; CI = konfidencia intervallum)

Polimorfizmus	Publikáció		Genetikai modell		OR	95%CI	p
SNP rs2075876 (G>A)	Terao C, 2011	A	Allelikus*	(A vs G)	1,21	1,09-1,36	< 0,001
			Domináns	(AG+AA vs GG)	1,18	1,06-1,32	0,002
			Recesszív	(AA vs AG+GG)	1,53	1,31-1,79	< 0,001
			Kodomináns heterozigóta	(AG vs GG)	1,08	0,96-1,21	0,168
			Kodomináns homozigóta	(AA vs GG)	1,60	1,35-1,89	< 0,001
		B	Allelikus*	(A vs G)	1,18	1,07-1,30	< 0,001
			Domináns	(AG+AA vs GG)	1,31	1,19-1,45	< 0,001
			Recesszív	(AA vs AG+GG)	1,09	0,95-1,26	0,204
			Kodomináns heterozigóta	(AG vs GG)	1,32	1,20-1,47	< 0,001
			Kodomináns homozigóta	(AA vs GG)	1,27	1,09-1,48	0,002
		C	Allelikus*	(A vs G)	1,15	1,06-1,24	< 0,001
			Domináns	(AG+AA vs GG)	1,18	1,09-1,27	< 0,001
			Recesszív	(AA vs AG+GG)	1,25	1,12-1,39	< 0,001
			Kodomináns heterozigóta	(AG vs GG)	1,13	1,05-1,23	0,002
			Kodomináns homozigóta	(AA vs GG)	1,34	1,19-1,51	< 0,001
	García-Lozano JR, 2013		Allelikus	(A vs G)	1,02	0,42-2,42	0,964
			Domináns	(AG+AA vs GG)	NA		
			Recesszív	(AA vs AG+GG)			
			Kodomináns heterozigóta	(AG vs GG)			
			Kodomináns homozigóta	(AA vs GG)			
	Shao S, 2014		Allelikus*	(A vs G)	1,32	1,04-1,69	0,021
			Domináns	(AG+AA vs GG)	1,41	1,08-1,84	0,010
			Recesszív	(AA vs AG+GG)	1,52	1,13-2,05	0,006
			Kodomináns heterozigóta	(AG vs GG)	1,28	0,97-1,70	0,077
			Kodomináns homozigóta	(AA vs GG)	1,78	1,26-2,52	0,001
	Feng ZJ, 2015		Allelikus	(A vs G)	1,30	1,12-1,50	< 0,001
			Domináns	(AG+AA vs GG)	1,55	1,32-1,82	< 0,001
			Recesszív	(AA vs AG+GG)	1,25	1,05-1,49	0,010
			Kodomináns heterozigóta	(AG vs GG)	1,51	1,28-1,79	< 0,001
			Kodomináns homozigóta	(AA vs GG)	1,62	1,32-1,99	< 0,001
	Li X, 2016		Allelikus*	(A vs G)	1,41	1,16-1,70	< 0,001
			Domináns	(AG+AA vs GG)	1,48	1,22-1,78	< 0,001
			Recesszív	(AA vs AG+GG)	1,78	1,36-2,35	< 0,001
			Kodomináns heterozigóta	(AG vs GG)	1,34	1,10-1,64	0,003
			Kodomináns homozigóta	(AA vs GG)	2,09	1,56-2,81	< 0,001

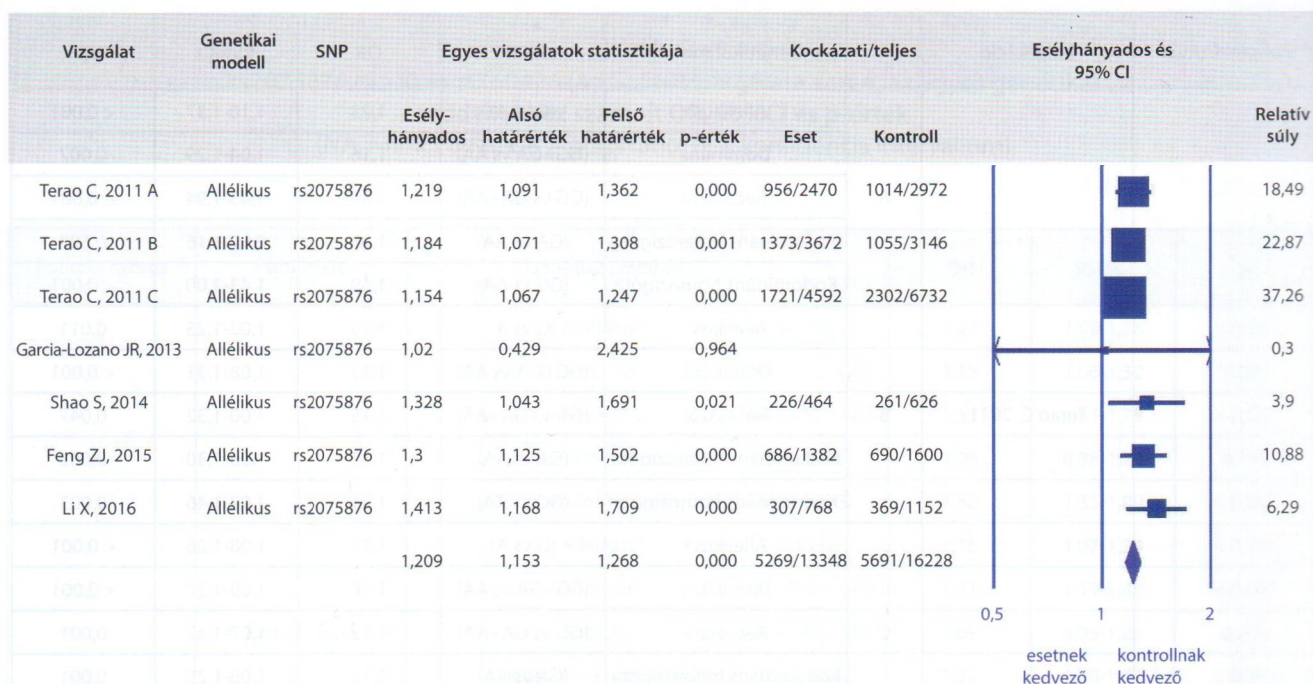
Polimorfizmus	Publikáció		Genetikai modell		OR	95%CI	p
SNP rs760426 (A>G)	Terao C, 2011	A	Allelikus*	(G vs A)	1,23	1,10-1,37	< 0,001
			Domináns	(GG+GA vs AA)	1,16	1,04-1,29	0,007
			Recesszív	(GG vs GA+AA)	1,66	1,43-1,94	< 0,001
			Kodomináns heterozigóta	(GA vs AA)	1,03	0,92-1,16	0,582
			Kodomináns homozigóta	(GG vs AA)	1,69	1,43-2,00	< 0,001
		B	Allelikus*	(G vs A)	1,13	1,02-1,25	0,011
			Domináns	(GG+GA vs AA)	1,19	1,08-1,31	< 0,001
			Recesszív	(GG vs GA+AA)	1,15	1,00-1,32	0,047
			Kodomináns heterozigóta	(GA vs AA)	1,17	1,06-1,30	0,002
			Kodomináns homozigóta	(GG vs AA)	1,25	1,08-1,46	0,003
		C	Allelikus*	(G vs A)	1,16	1,08-1,26	< 0,001
			Domináns	(GG+GA vs AA)	1,18	1,09-1,27	< 0,001
			Recesszív	(GG vs GA+AA)	1,19	1,07-1,32	0,001
			Kodomináns heterozigóta	(GA vs AA)	1,15	1,06-1,25	0,001
			Kodomináns homozigóta	(GG vs AA)	1,29	1,15-1,44	< 0,001
	Shao S, 2014		Allelikus*	(G vs A)	1,25	0,98-1,60	0,062
			Domináns	(GG+GA vs AA)	1,19	0,92-1,55	0,171
			Recesszív	(GG vs GA+AA)	1,55	1,16-2,08	0,003
			Kodomináns heterozigóta	(GA vs AA)	1,04	0,79-1,38	0,741
			Kodomináns homozigóta	(GG vs AA)	1,60	1,15-2,24	0,006
	Feng ZJ, 2015		Allelikus*	(G vs A)	1,87	1,09-2,45	0,074
			Domináns	(GG+GA vs AA)	NA		
			Recesszív	(GG vs GA+AA)			
			Kodomináns heterozigóta	(GA vs AA)			
			Kodomináns homozigóta	(GG vs AA)			
	Li X, 2016		Allelikus*	(G vs A)	1,25	1,04-1,52	0,018
			Domináns	(GG+GA vs AA)	1,32	1,10-1,59	0,003
			Recesszív	(GG vs GA+AA)	1,36	1,05-1,77	0,020
			Kodomináns heterozigóta	(GA vs AA)	1,26	1,03-1,54	0,020
			Kodomináns homozigóta	(GG vs AA)	1,54	1,16-2,04	0,003

*-gal jelölt értékek a használható irodalmi értéket jelentik

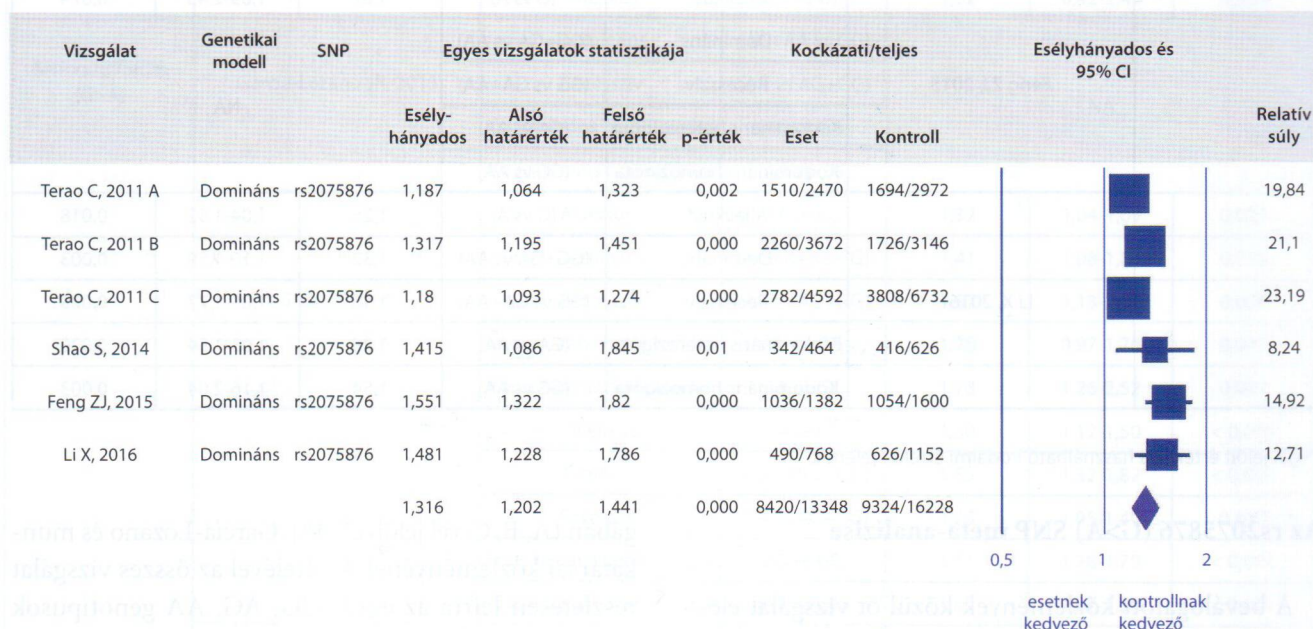
Az rs2075876 (G>A) SNP meta-analízise

A beválogatott közlemények közül öt vizsgálat elemezte az rs2075876 (G>A) SNP és az RA fogékonysága közötti összefüggést [18–22]. A beválasztott közlemények allélokkal számoltak, így a résztvevők számát megduplázták. Annak érdekében, hogy a számolás egy-egy legyen, mi is ezt követtük. A publikációk közül Terao és munkatársai által készített GWAS három egymástól független eset-kontroll vizsgálatot foglalt ma-

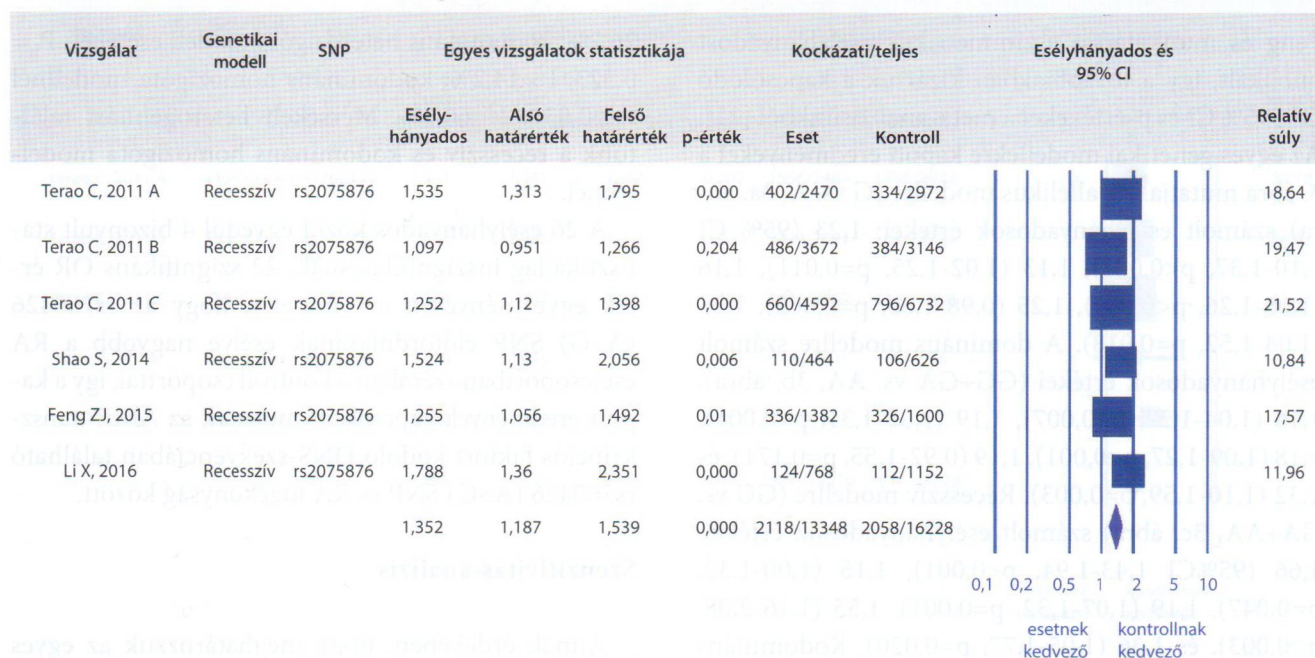
gában (A, B, C-vel jelölve) [18]. García-Lozano és munkatársai közleményének kivételével az összes vizsgálat részletesen leírta az egyes GG, AG, AA genotípusok megoszlását, ebből adódóan esélyhányadosokat tudunk számolni olyan esetekben, ha azok nem álltak rendelkezésre (II. táblázat) [19]. Az egyes genetikai modellekre kapott eredményeket a 2. ábra mutatja. Az allélikus modellre (A vs. G, 2a. ábra) számolt esélyhányadosok értékei: 1,21 (95% CI 1,09-1,36, p<0,001), 1,18 (1,07-1,30, p=0,001), 1,15 (1,06-1,24, p<0,001),



2a. ábra
Allélikus modellre (A vs. G) számított forest plot, mely az rs2075876 (G>A) SNP és a RA kockázata közötti összefüggést mutatja



2b. ábra
Domináns modellre (AG+AA vs. GG) számított forest plot, mely az rs2075876 (G>A) SNP és a RA kockázata közötti összefüggést mutatja



2c. ábra

Recesszív (AA vs. AG+GG) modellre számított forest plot, mely az rs2075876 (G>A) SNP és a RA kockázata közötti összefüggést mutatja

1,02 (0,42-2,42, $p=0,964$), 1,32 (1,04-1,69, $p=0,021$), 1,30 (1,12-1,50, $p<0,00$), és 1,41 (1,16-1,70, $p<0,001$). A domináns modellre (AG+AA vs. GG, 2b. ábra) számolt esélyhányadosok értékei: 1,18, (95% CI 1,06-1,32, $p=0,002$), 1,31 (1,19-1,45, $p<0,001$), 1,18 (1,09-1,27, $p<0,001$), 1,41 (1,08-1,84, $p=0,010$), 1,55 (1,32-1,82, $p<0,001$), és 1,48 (1,22-1,78, $p<0,001$). Recesszív modellre (AA vs. AG+GG, 2c. ábra) számolt OR értékek: 1,53 (95% CI 1,31-1,79, $p<0,001$), 1,09 (0,95-1,26, $p=0,204$), 1,25 (1,12-1,39, $p<0,001$), 1,52 (1,13-2,05, $p=0,006$), 1,25 (1,05-1,49, $p=0,010$), és 1,78 (1,36-2,35, $p<0,001$). Kodomináns heterozigóta modell (AG vs. GG) esetében számolt esélyhányadosok értékei: 1,08 (0,96-1,21, $p=0,168$), 1,32 (1,20-1,47, $p<0,001$), 1,13 (1,05-1,23, $p=0,002$), 1,28 (0,97-1,70, $p=0,077$), 1,51 (1,28-1,79, $p<0,001$), és 1,34 (1,10-1,64, $p=0,003$). A kodomináns homozigóta modellre (AA vs. GG) számolt OR értékek: 1,60 (95% CI 1,35-1,89, $p<0,001$), 1,27 (1,09-1,48, $p=0,002$), 1,34 (1,19-1,51, $p<0,001$), 1,78 (1,26-2,52, $p=0,001$), 1,62 (1,32-1,99, $p<0,001$), és 2,09, (1,56-2,81, $p<0,001$).

A heterogenitási tesztek eredménye az allélikus modell esetében $P_h=0,439$, $I^2=0\%$; domináns modellnél $P_h=0,011$, $I^2=66,2\%$; recesszív modellnél $P_h=0,005$, $I^2=69,9\%$; kodomináns heterozigóta modell esetében $P_h=0,004$, $I^2=70,5\%$; kodomináns homozigóta modellnél $P_h=0,012$, $I^2=65,4\%$. Mérsékelt heterogenitást

találtunk a domináns, recesszív, kodomináns heterozigóta és kodomináns homozigóta modelleknél. A 31 esélyhányados közül egyedül 4 bizonyult statisztikailag inszignifikánsnak, 27 szignifikáns OR érték egyezményesen azt mutatta, hogy az rs2075876 (G>A) SNP előfordulásának esélye nagyobb a RA esetcsoportban szemben a kontroll csoporttal, így a kapott eredmények kapcsolatot mutattak az AIRE transzkripció faktort kódoló DNS-szekvenciában található rs2075876 (G>A) SNP és RA fogékonyság között.

Az rs760426 (A>G) SNP meta-analízise

A bevásztott közlemények közül négy vizsgálat elemezte az rs760426 (A>G) SNP és a RA fogékonysága közötti összefüggést [18, 20–22]. A bevásztott közlemények allélokkal számoltak, így a résztvevők számát megduplázták. Annak érdekében, hogy számolásunk egységes legyen, mi is ezt követtük. Ez esetben is, Terao és munkatársai által készített GWAS analízis három egymástól független eset-kontroll vizsgálattal szolgált (A, B, C-vel jelölve) [18]. Feng és munkatársai közleményének kivételével az összes vizsgálat részletesen leírta az egyes AA, GA, GG genotípusok megoszlását, ebből adódóan esélyhányadosokat tudtunk számolni olyan esetekben, ha azok az eredeti közleményekben nem álltak rendelkezésre (II. táblázat) [21].

Feng és munkatársai aszimmetrikus esélyhányadost publikált, így a továbbiakban kizártuk a kapcsolódó OR, 95% CI és p-értékeket a meta-analízisünkből [21]. Az egyes genetikai modellekre kapott eredményeket a 3. ábra mutatja. Az allélikus modellre (G vs. A, 3a. ábra) számolt esélyhányadosok értékei: 1,23 (95% CI 1,10-1,37, $p<0,001$), 1,13 (1,02-1,25, $p=0,011$), 1,16 (1,08-1,26, $p<0,001$), 1,25 (0,98-1,60, $p=0,062$), 1,25 (1,04-1,52, $p=0,018$). A domináns modellre számolt esélyhányadosok értékei (GG+GA vs. AA, 3b. ábra): 1,16 (1,04-1,29, $p=0,007$), 1,19 (1,08-1,31, $p<0,001$), 1,18 (1,09-1,27, $p<0,001$), 1,19 (0,92-1,55, $p=0,171$), és 1,32 (1,10-1,59, $p=0,003$). Recesszív modellre (GG vs. GA+AA, 3c. ábra) számolt esélyhányadosok értékei: 1,66 (95%CI 1,43-1,94, $p<0,001$), 1,15 (1,00-1,32, $p=0,047$), 1,19 (1,07-1,32, $p=0,001$), 1,55 (1,16-2,08, $p=0,003$), és 1,36 (1,05-1,77, $p=0,020$). Kodomináns heterozigóta modellre (GA vs. AA) számolt esélyhányadosok értékei: 1,03, (95% CI 0,92-1,16, $p=0,582$), 1,17 (1,06-1,30, $p=0,002$), 1,15 (1,06-1,25, $p=0,001$), 1,04 (0,79-1,38, $p=0,741$), and 1,26 (1,03-1,54, $p=0,020$). Kodomináns homozigóta modellre (GG vs. AA) számolt esélyhányadosok értékei: 1,69 (1,43-2,00, $p<0,001$), 1,25 (1,08-1,46, $p=0,003$), 1,29 (1,15-1,44, $p<0,001$), 1,60 (1,15-2,24, $p=0,006$), és 1,54 (1,16-2,04, $p=0,003$).

A heterogenitási tesztek eredménye az allélikus modell esetében $P_h=0,737$, $I^2=0\%$; domináns modellnél $P_h=0,822$, $I^2=0\%$; recesszív modellnél $P_h=0,001$, $I^2=$

76,7%; kodomináns heterozigóta modell esetében $P_h=0,323$, $I^2=14,2\%$; kodomináns homozigóta modellnél $P_h=0,038$, $I^2=60,5\%$. Mérsékelt heterogenitást találtunk a recesszív és kodomináns homozigóta modelleknél.

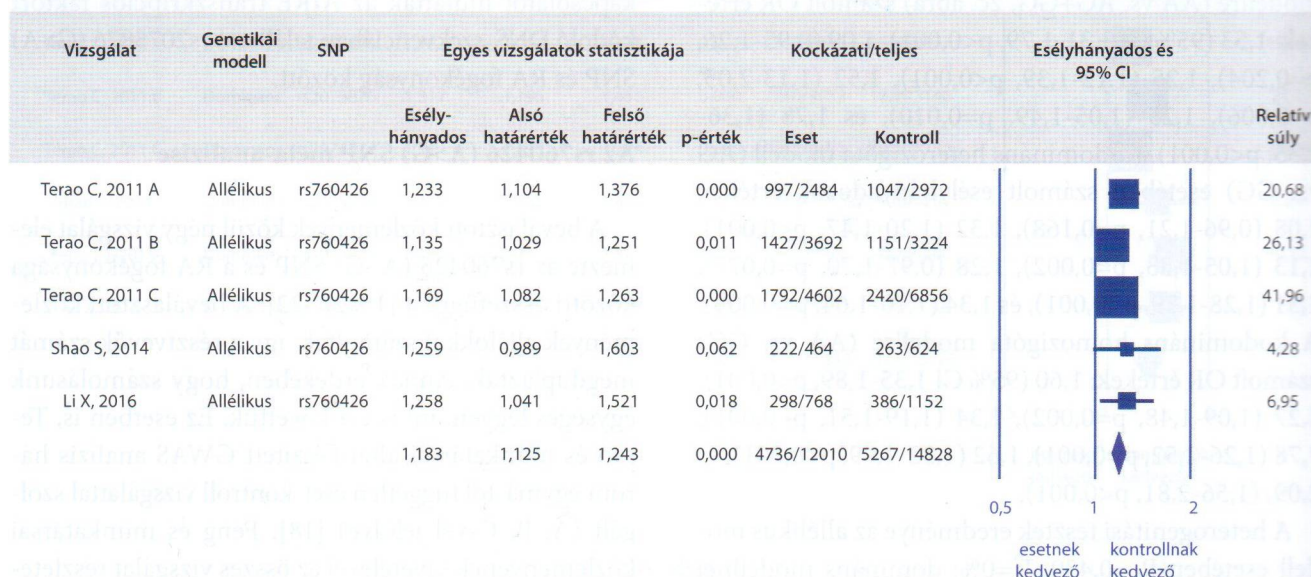
A 26 esélyhányados közül egyedül 4 bizonyult statisztikailag inszignifikánsnak, 22 szignifikáns OR érték egyezményesen azt mutatta, hogy az rs760426 (A>G) SNP előfordulásának esélye nagyobb a RA esetscsoportban szemben a kontroll csoporttal, így a kapott eredmények kapcsolatot mutattak az AIRE transzkripció faktort kódoló DNS-szekvenciában található rs760426 (A>G) SNP és RA fogékonyság között.

Szenzitivitás-analízis

Annak érdekében, hogy meghatározzuk az egyes eset-kontroll vizsgálatok hatását a teljes meta-analízisre szenzitivitás-analízist végeztünk egy adott vizsgálat kihagyásával, melynek eredményeképpen, az allélikus (4. ábra), domináns, recesszív, kodomináns hetero- és homozigóta genetikai modelleknél nem találtunk heterogenitást.

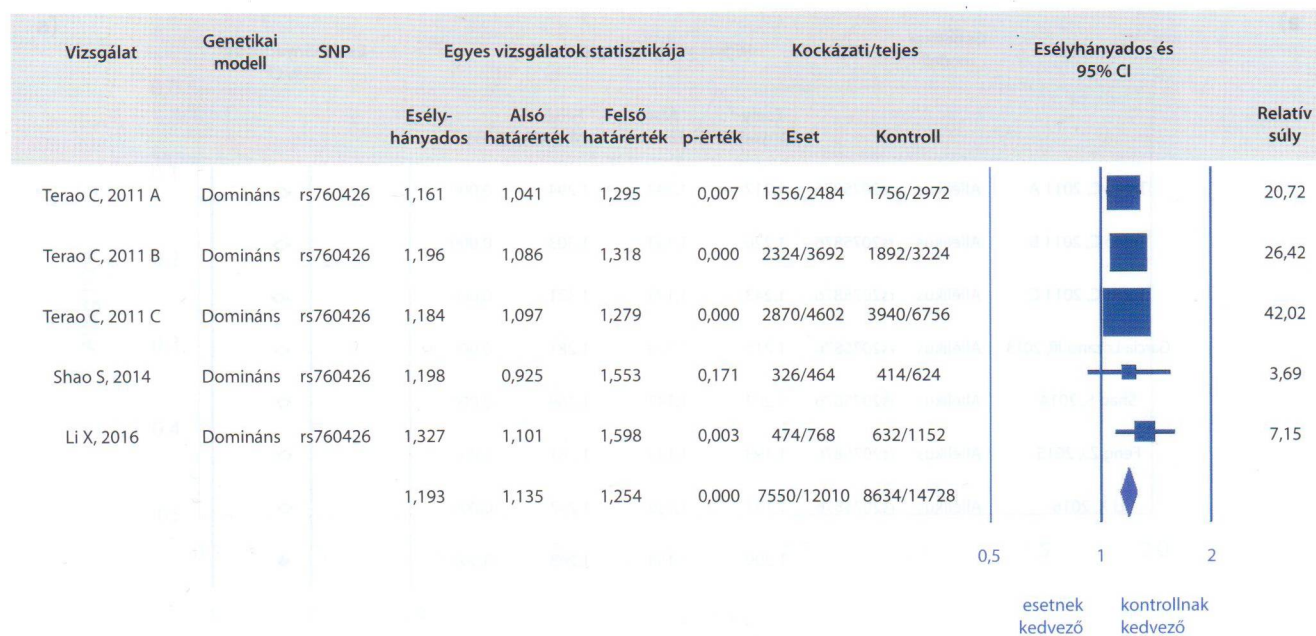
Publikációs torzítás

Az analízis során funnel plotokat hoztunk létre az egyes polimorfizmusok esetében az allélikus (5. ábra), domináns, recesszív, kodomináns hetero- és homozigóta

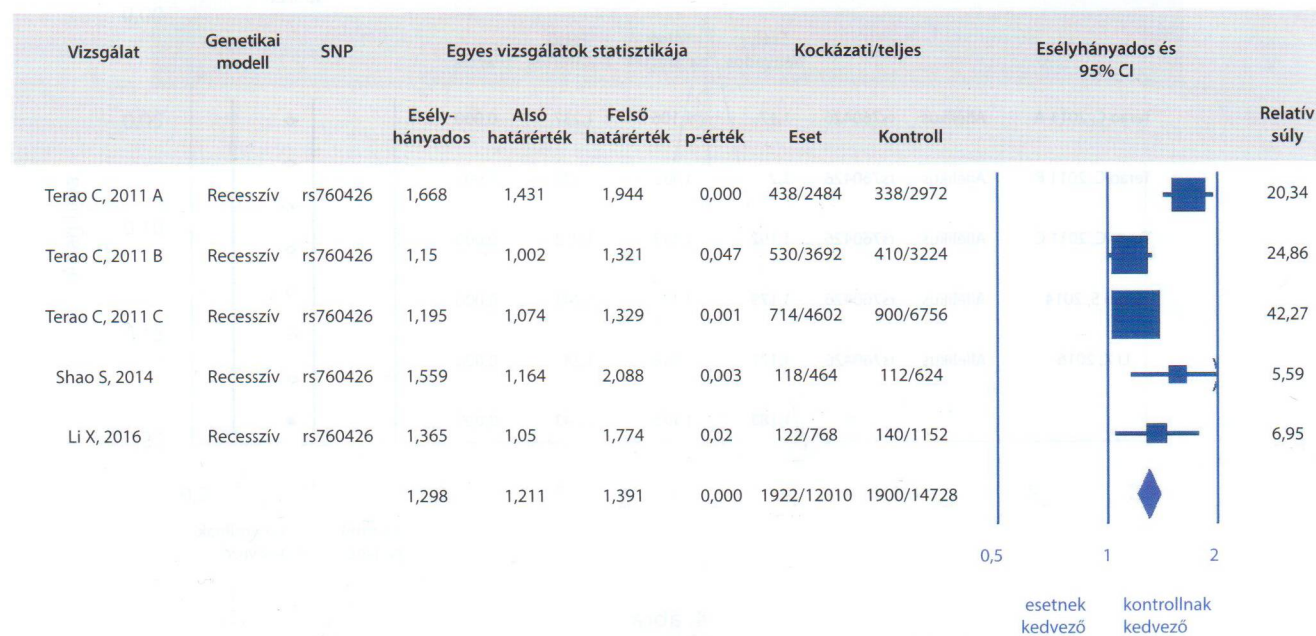


3a. ábra

Allélikus modellre (G vs. A) számított forest plot, mely az rs760426 (A>G) SNP és a RA kockázata közötti összefüggést mutatja

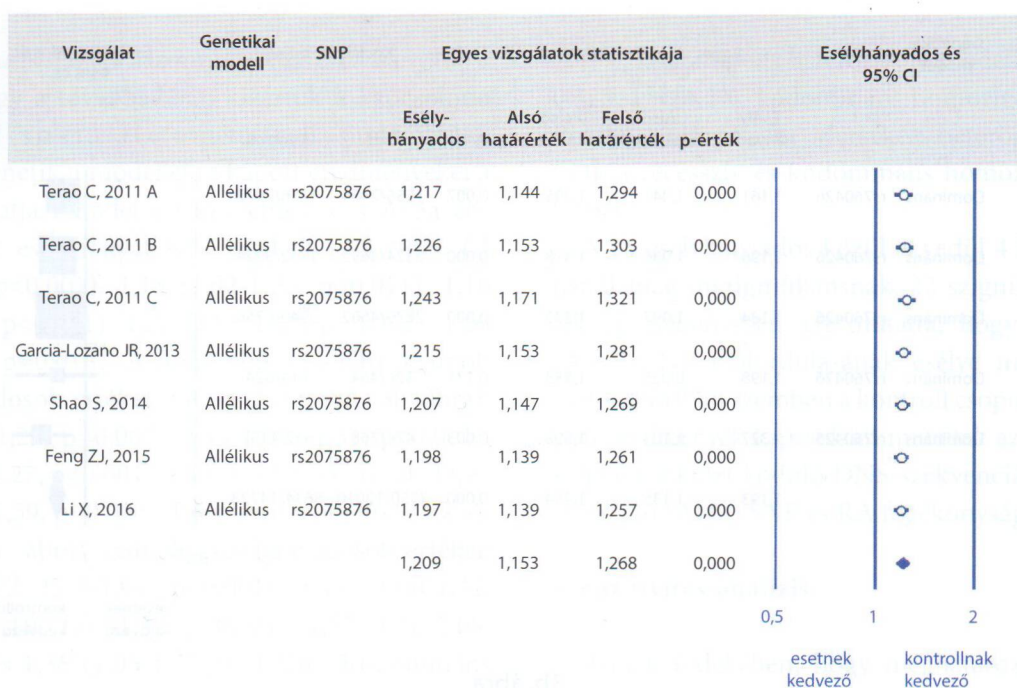


3b. ábra
Domináns modellre (GG+GA vs. AA) számított forest plot, mely az rs760426 (A>G) SNP és a RA kockázata közötti összefüggést mutatja

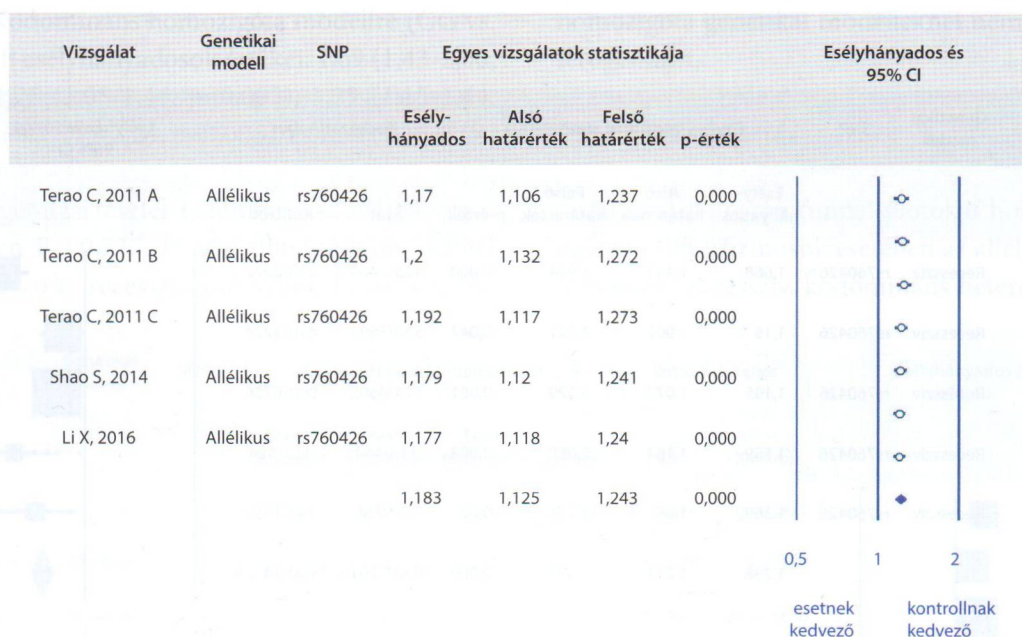


3c. ábra
Recesszív modellre (GG vs. GA+AA) számított forest plot, mely az rs760426 (A>G) SNP és a RA kockázata közötti összefüggést mutatja

a)



b)



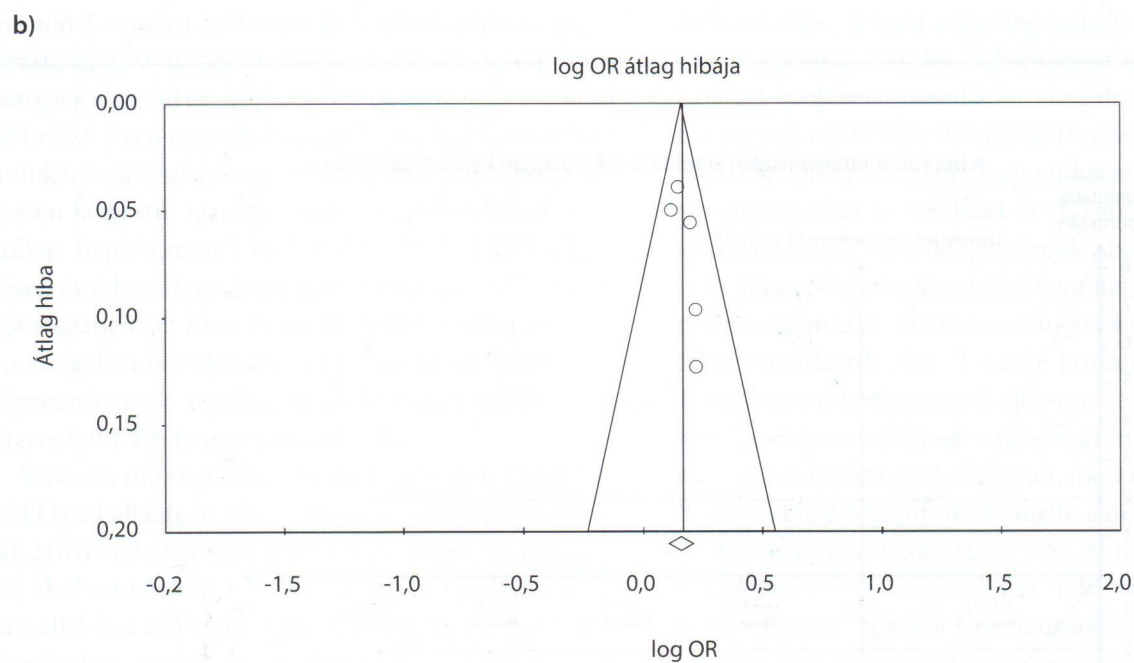
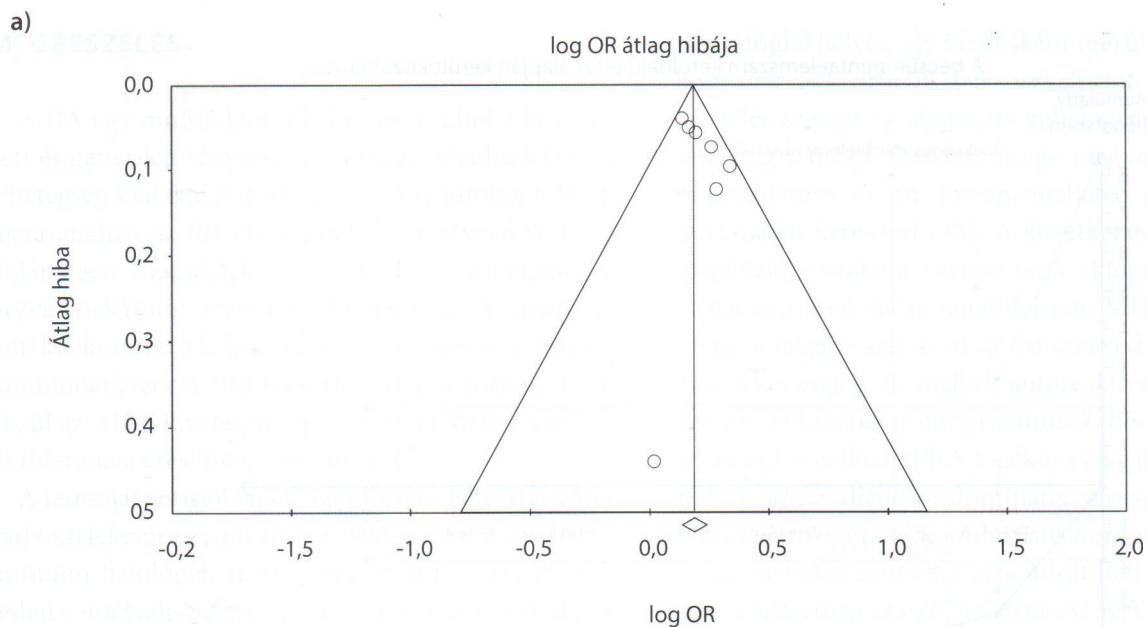
4. ábra

Allélikus modell szenzitivitás analízisének eredménye
(a) rs2075876 (G>A) és (b) rs760426 (A>G) SNP esetében

góta genetikai modellekre. Elemzésünk során szemrevételezéssel azt tapasztaltuk, hogy az összes funnel plot tökéletesen szimmetrikus, így publikációs torzítás nem volt jelen rs2075876 SNP és rs760426 SNP vizsgálatokor.

Trial sequential analízis

Az rs2075876 (G>A) és rs760426 (A>G) SNP-k allélikus modelljeire elvégzett TSA eredményeként a kumulált z-görbék (kék vonal) metszték a TSA moni-



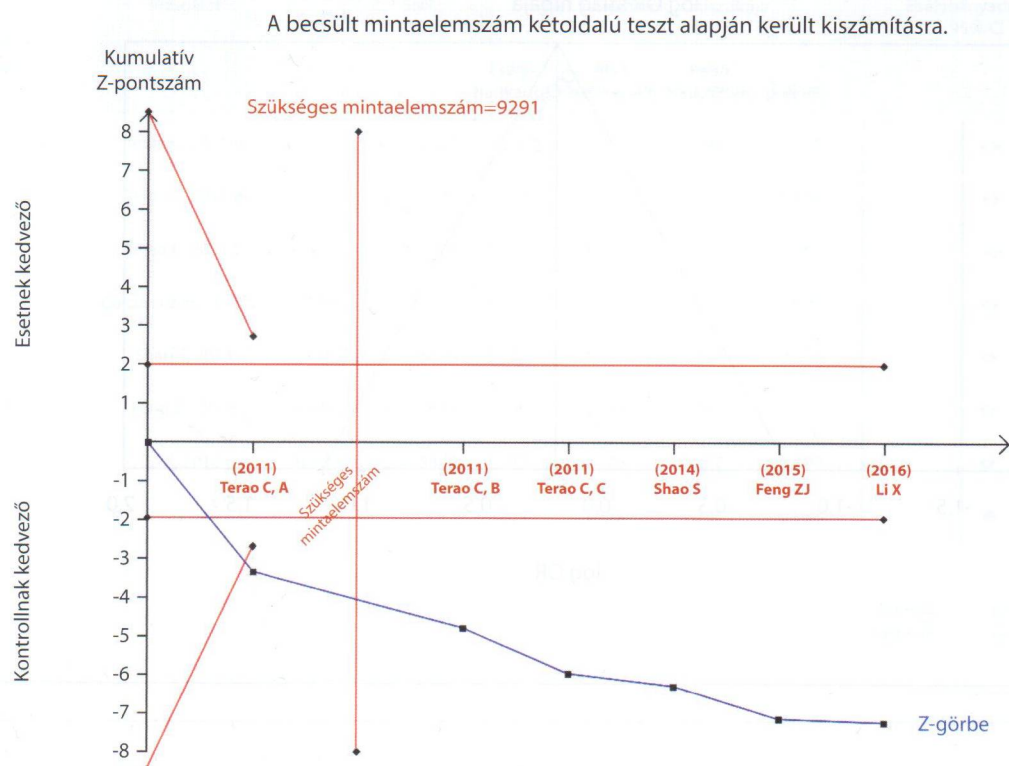
5. ábra

Allélikus modell funnel plot analízisének eredménye
(a) rs2075876 (G>A) és (b) rs760426 (A>G) SNP esetében

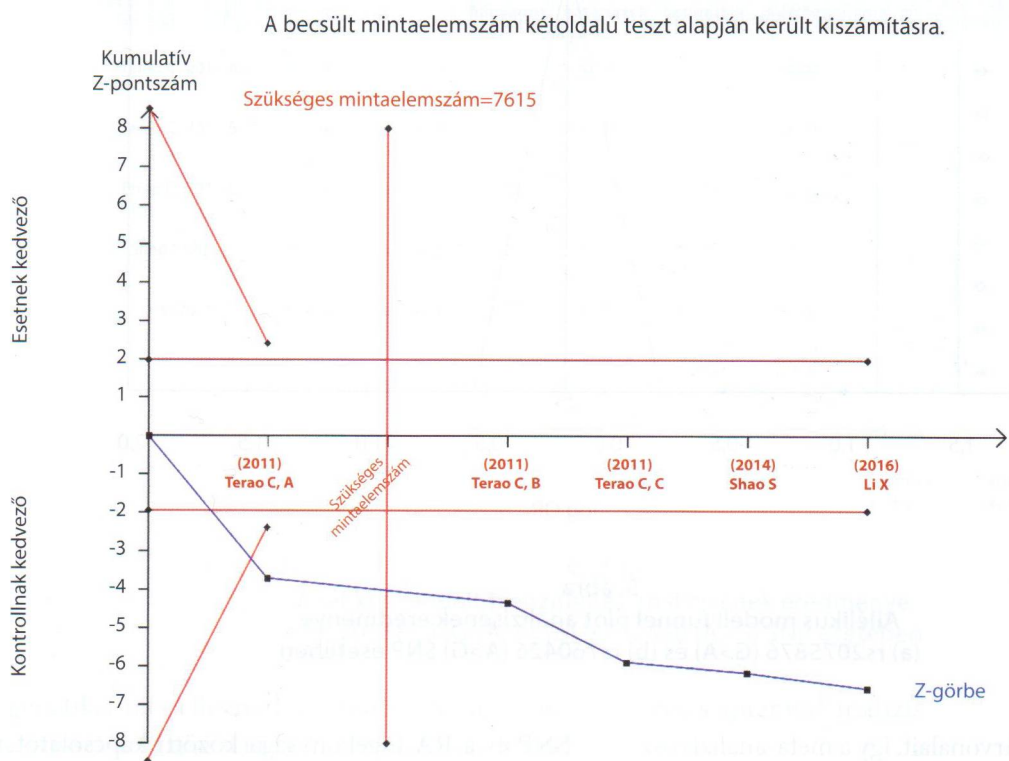
toráló (ellenőrző) határvonalait, így a meta-analízis összesített elemszáma eléri a szükséges értéket (6. ábra). Ebből adódóan, a levont következtetés nagy erősséggel alátámasztja az rs2075876 (G>A), rs760426 (A>G)

SNP és a RA fogékonysága közötti kapcsolatot. Ezek az eredmények egyúttal azt is mutatják, hogy az összefüggés szempontjából meta-analízisünkbe további vizsgálatot bevonni szükségtelen.

a)



b)



6. ábra

Allélikus modell TSA analizisének eredménye (a) rs2075876 (G>A) és (b) rs760426 (A>G) SNP esetében

MEGBESZÉLÉS

A RA egy multifaktoriális betegség, ahol a környezeti és genetikai tényezők együttesen járulnak hozzá a betegség kialakulásához [1, 32]. A legutóbbi GWAS meta-analízis az RA etiológiájában résztvevő 98 kandidáns gén vizsgálatakor 42 különböző, a betegségre nézve kockázatot jelentő SNP-t talált [6]. Az azonosított kockázatot jelentő gének elsődlegesen a primer immundeficiencia (PID) csoportjába tartoznak. Ezek közül az AIRE kivételével egyik sem köthető a centrális tolerancia érési folyamatához [6].

A test saját antigénjeinek toleranciája, beleértve a negatív szelekciót egy olyan – az AIRE által irányított – immuno-fiziológiai érési folyamat, mely nélkülözhetetlen a normális adaptív immunrendszer kialakulásához. Úgy gondoljuk, hogy bizonyos polimorfizmusok ebben az elengedhetetlen transzkripciós faktort kódoló génben csökkentik a fehérje expressziót, zavart szenved az antigén prezentáció, csökken a negatív szelekció hatékonysága, melynek eredményeképpen az autoimmun T-sejtek a centrális toleranciát túlélik és a perifériára kijutva autoantitestekként számos autoimmun betegség alapjául szolgálhatnak, beleértve a rheumatoid arthritist. Ezen elgondolás alapjául szolgál Lovewell és munkatársai közleménye, mely luciferáz riporter rendszeren keresztül igazolta, hogy az AIRE SNP-ek specifikus haplotípusai (AIRE-655G AIRE-230T) jelentősen csökkentik az AIRE gén átíródását [13]. Ennek következményét Kont és munkatársai in vitro és in vivo vizsgálata bizonyította, mely szerint az AIRE gén-expressziójának redukciója csökkenti a mTEC által prezentált PTA-k mennyiségét [33].

Terao és munkatársai a Gene Expression Omnibus (GEO) adatbázis in silico elemzése során megvizsgálták 210 lymphoblastoid sejt AIRE génexpressziós profilját, ahol azt találták, az rs2075876 (G>A) jelölt kockázati allél és a csökkent AIRE transzkripció között statisztikailag szignifikáns ($p < 0,001$) az összefüggés, míg az rs760426 (A>G) allél esetében ez nem volt megfigyelhető [17, 35]. A GEO adatbázist García-Lozano és munkatársai is vizsgálták, melynek során összefüggést találtak az AIRE gén egy másik lókuszan található rs878081 (T>C) allélpolimorfizmus és a csökkent transzkripció között, amelyet az is alátámaszt, hogy a kérdéses polimorfizmus a kódoló génszakasz Exon 5-ös régiójában foglal helyet [19]. Meta-analízisünkben vizsgált rs2075876 (G>A) SNP az AIRE gén az 5-ös intron, rs760426 (A>G) SNP pedig a 12-es intron régió-

jában foglal helyet, így kérdésként merülhet fel, mégis hogyan csökkenthetik a transzkripciót. Az egyik elképzelés szerint az alternatív splicing megváltoztatásán, míg a másik feltételezés egy még kevésbé ismert mechanizmus az ún. intron-mediated enhancement folyamatán keresztül [35]. A következmény egy nem megfelelő, csökkent mennyiségű ektópiás PTA prezentáció a medulláris sejtek felszíni MHC-receptorain, így a negatív szelekció zavart szenved és olyan érett T-sejteket enged át, melyek autoreaktívak. Ezen egy pontos nukleotid polimorfizmusok hordozása egyet jelent egy emelkedett RA fogékonysággal. Meta-analízisünk során allélikus, domináns, recesszív, kodomináns heterozigóta és kodomináns homozigóta genetikai modelleket elemezve arra jutottunk, hogy mindegyik rendszerben az rs2075876 (G>A) és rs760426 (A>G) SNP-k előfordulásának esélye statisztikailag szignifikánsan magasabb a kontroll csoporthoz képest.

Vizsgálatunk egyik korlátja, hogy az rs2075876 (G>A) és rs760426 (A>G) SNP-kkel kapcsolatos eredményeinket nem tudtuk kiterjeszteni kaukázusi populációra, melynek magyarázata a jelenleg csekély számú, ezt célzó eset-kontroll vizsgálat. Habár García-Lozano és munkatársai kaukázusi populációt vizsgált, de az általunk is elemzett rs2075876 (G>A) SNP-re vonatkozó eredményeik statisztikailag nem szignifikánsak $p < 0,05$ szintjén, ugyanakkor az rs878081 (T>C) allél nagyobb előfordulási esélyét sikerült igazolniuk a betegcsoportban [19]. Terao és munkatársai által bemutatott RA és AIRE polimorfizmusok közti összefüggés kizárólag ázsiaiakra vonatkozik [18]. További korlátként merül fel a beválasztott közlemények alacsony száma, ugyanakkor Terao és munkatársai által elvégzett GWAS 3 eset-kontroll analízist foglal magában, mely így hozzájárult a nagyobb elemszámhoz és emelte a beválogatott epidemiológiai vizsgálatok számát [18]. Ahhoz, hogy a jövőben pontosabban megértsük az AIRE SNP és RA közti összefüggést, további kaukázusiakat célzó, rétegzett (életkor, dohányzás), GWAS eset-kontroll elemzések-re van szükség.

Jelenlegi tudásunk szerint, ez az első olyan meta-analízis, mely együttesen vizsgálja az AIRE fehérjét kódoló DNS szekvenciában található rs2075876 (G>A), rs760426 (A>G) SNP és a RA közötti statisztikai összefüggést. Az egyes polimorfizmusokhoz többszörös haplotípus, szenzitivitás analízist és TSA elemzést végeztünk, hogy bizonyítsuk a talált összefüggés erősségét. Következtetésekként elmondható, meta-analízisünk minden egyes genetikai modell esetében igazol-

ta, hogy a vizsgált rs2075876 (G>A) és rs760426 (A>G) polimorfizmusok meglete szignifikánsan emelik a RA fogékonyságát. Jelen közleményünk a Nature Scientific Reports folyóiratában, 2017. október 26-án megjelent publikációnk fordítása [36].

IRODALOM

1. Scott, D. L., Wolfe, F., Huizinga, T. W.: Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 376:1094-1108, 2010
2. Cosway, E., Anderson, G., Garside, P., Prendergast, C.: The thymus and rheumatology: should we care? *Curr. Opin. Rheumatol.*, 28:189-195, 2016
3. Viatte, S., Plant, D., Raychaudhuri, S.: Genetics and epigenetics of rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 9:141-153, 2013
4. Starr, T. K., Jameson, S. C., Hogquist, K. A.: Positive and negative selection of T cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 21:139-176, 2003
5. Mellado, M. et al.: T Cell Migration in Rheumatoid Arthritis. *Front. Immunol.*, 6:1-12, 2015
6. Okada, Y. et al.: Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature*, 506:376-381, 2014
7. Colobran R., Giménez-Barcons, M., Marín-Sánchez, A., Porta-Pardo, E., Pujol-Borrell, R.: AIRE genetic variants and predisposition to polygenic autoimmune disease: The case of Graves' disease and a systematic literature review. *Hum. Immunol.*, 77:643-651, 2016
8. Nagamine, K. et al.: Positional cloning of the APECED gene. *Nat. Genet.*, 17:393-398, 1997
9. Finnish-German APECED Consortium: An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nat. Genet.*, 17:399-403, 1997
10. Mathis, D., Benoist, C.: Aire. *Annu. Rev. Immunol.*, 27:287-312, 2009
11. Anderson, M. S., Su, M. A.: Aire and T cell development. *Curr. Opin. Immunol.*, 23:198-206, 2011
12. Heino, M. et al.: APECED mutations in the autoimmune regulator (AIRE) gene. *Hum. Mutat.*, 18:205-211, 2001
13. Lovewell, T. R., McDonagh, A. J., Messenger, A. G., Azzouz, M., Tazi-Ahnini, R.: The AIRE -230Y Polymorphism Affects AIRE Transcriptional Activity: Potential Influence on AIRE Function in the Thymus. *PLoS One*, 10: e0127476, 2015
14. Tazi-Ahnini, R. et al.: The autoimmune regulator gene (AIRE) is strongly associated with vitiligo. *Br. J. Dermatol.*, 159:591-596, 2008
15. Wengraf, D. A. et al.: Genetic analysis of autoimmune regulator haplotypes in alopecia areata. *Tissue Antigens*, 71:206-212, 2008
16. Conteduca, G. et al.: The role of AIRE polymorphisms in melanoma. *Clin. Immunol.*, 136:96-104, 2010
17. Ferrera, F. et al.: AIRE gene polymorphisms in systemic sclerosis associated with autoimmune thyroiditis. *Clin. Immunol.*, 122:13-17, 2007
18. Terao, C. et al.: The human AIRE gene at chromosome 21q22 is a genetic determinant for the predisposition to rheumatoid arthritis in Japanese population. *Hum. Mol. Genet.*, 20:2680-2685, 2011
19. García-Lozano, J. R. et al.: Association of the AIRE gene with susceptibility to rheumatoid arthritis in a European population: a case control study. *Arthritis Res. Ther.*, 15: R11, 2013
20. Shao, S., Li, X. R., Cen, H., Yin, Z. S.: Association of AIRE polymorphisms with genetic susceptibility to rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Inflammation*, 37:495-499, 2014
21. Feng, Z. J., Zhang, S. L., Wen, H. F., Liang, Y.: Association of rs2075876 polymorphism of AIRE gene with rheumatoid arthritis risk. *Hum. Immunol.*, 76:281-285, 2015
22. Li, X., Li, T., Chen, M., Chai, Y.: Association of AIRE gene polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis among ethnic Han Chinese from Shaanxi. *Chin. J. Med. Genet.*, 33:373-377, 2016
23. Xu, Y. S., Jiang, X. J., Chen, J. M.: A single nucleotide polymorphism of AIRE gene located in the 21q22. 3 increases the risk of rheumatoid arthritis. *Oncotarget*, 8:71556-71562, 2017
24. Moher, D. et al.: Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst. Rev.*, 1:2046-4053, 2015
25. DerSimonian, R., Laird, N.: Meta-analysis in clinical trials revisited. *Contemp. Clin. Trials*, 45:139-145, 2015
26. The Cochrane Collaboration Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 (eds. Higgins, J. P. T., Green, S. John Wiley & Sons, 2011)
27. Turner, R. M., Bird, S. M., Higgins, J. P.: The impact of study size on meta-analyses: examination of underpowered studies in Cochrane reviews. *PLoS One*, 8:e59202, 2013
28. Wetterslev, J., Thorlund, K., Brok, J., Gluud, C.: Trial sequential analysis may establish when firm evidence is reached in cumulative meta-analysis. *J. Clin. Epidemiol.*, 61:64-75, 2008
29. Brok, J., Thorlund, K., Wetterslev, J., Gluud, C.: Apparently conclusive meta-analyses may be inconclusive - Trial sequential analysis adjustment of random error risk due to repetitive testing of accumulating data in apparently conclusive neonatal meta-analyses. *Int. J. Epidemiol.*, 38:287-298, 2009
30. Wetterslev, J., Thorlund, K., Brok, J., Gluud, C.: Estimating required information size by quantifying diversity in random-effects model meta-analyses. *BMC Med. Res. Methodol.*, 9:1471-2288, 2009
31. Arnett, F. C. et al.: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 31:315-324, 1988
32. van der Woude, D. et al.: Quantitative heritability of anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 60:916-923, 2009
33. Kont, V. et al.: Modulation of Aire regulates the expression of tissue-restricted antigens. *Mol. Immunol.*, 45:25-33, 2008
34. Stranger, B. E. et al.: Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science*, 315:848-853, 2007
35. Rose, A. B.: Intron-mediated regulation of gene expression. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 326:277-290, 2008
36. Bérczi, B., Gerencsér, G., Farkas, N. et al.: Association between AIRE gene polymorphism and rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Sci Rep.*, 7:1-11, 2017